2 月 February
2019, 62(2): 215 - 221

昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA

http://www.insect.org.cn
doi: 10.16380/j.kcxb.2019.02.008

河南不同地区棉蚜种群共生菌 *Wolbachia* 的检测及系统发育分析

李绍建, 高 蒙, 王 娜, 崔小伟, 桑素玲, 范腕腕, 王振宇*

(河南省农业科学院植物保护研究所, 农业部华北南部作物有害生物综合治理重点实验室,
河南省农作物病虫害综合防治重点实验室, 郑州 450002)

摘要:【目的】本研究旨在揭示河南省不同地区棉蚜 *Aphis gossypii* 种群共生菌 *Wolbachia* 的感染情况,明确 *Wolbachia* 的感染类型及分类地位。【方法】2016 -2017 年间采集河南省不同地区的 13 个棉蚜种群,通过扩增 *COI* 基因片段对其进行种类鉴定;通过扩增棉蚜种群中 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因片段对其进行 *Wolbachia* 感染率的检测,应用 neighbor-joining 法构建系统进化树进行棉蚜种群中 *Wolbachia* 的系统发育分析。【结果】对河南省内不同地区采集的 13 个棉蚜种群的 *Wolbachia* 感染率而言,郑州(ZZ)种群最高(46.67%),信阳 2(XY2)种群最低(6.67%),13 个种群 *Wolbachia* 的感染率范围为 6.67% ~46.67%,平均感染率为 28.35%。基于 *wsp* 基因构建的系统发育树表明,安阳和信阳的棉蚜种群感染的 *Wolbachia* 株系属于 B 大组,其余地区棉蚜种群感染的 *Wolbachia* 株系属于 A 大组。【结论】河南省不同地区的棉蚜种群 *Wolbachia* 感染率差别较大,且不同种群感染的 *Wolbachia* 株系分别属于 A 大组或 B 大组。

关键词: 棉蚜; *Wolbachia*; *wsp* 基因; 系统发育分析; 感染率; 株系

中图分类号: Q965.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 0454-6296(2019)02-0215-07

Detection and phylogenetic analysis of *Wolbachia* in *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) populations from different areas of Henan province, central China

LI Shao-Jian, GAO Meng, WANG Na, CUI Xiao-Wei, SANG Su-Ling, FAN Wan-Wan, WANG Zhen-Yu* (Henan Key Laboratory of Crop Pest Control, Key Laboratory of Integrated Pest Management on Crops in Southern Region of North China, Institute of Plant Protection, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China)

Abstract:【Aim】This study aims to investigate the infection of secondary endosymbiont *Wolbachia* in *Aphis gossypii* populations from different areas of Henan province, central China, and further to ascertain its infection type and phylogeny.【Methods】*A. gossypii* samples were collected from 13 areas of Henan province during 2016 -2017, and identified by amplifying the *COI* gene. The infection rate of *Wolbachia* was detected by amplification of the *wsp* gene sequence from the *Wolbachia* in different *A. gossypii* populations. The phylogenetic relationship of *Wolbachia* in different *A. gossypii* populations was constructed with neighbor-joining method.【Results】The infection rates of *Wolbachia* in 13 populations of *A. gossypii* collected from different areas of Henan province were different, being the highest (46.67%) in Zhengzhou (ZZ) population and the lowest (6.67%) in Xinyang 2 (XY2) population.

基金项目: 国家自然科学基金-河南人才培养联合基金项目(U1504317)
作者简介: 李绍建, 男, 1986 年 6 月生, 山东潍坊人, 博士, 助理研究员, 研究方向为昆虫分子生态学, E-mail: lishaojianli@126.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: wangzy21@163.com
收稿日期 Received: 2018-07-13; 接受日期 Accepted: 2018-09-25

The infection rates of *Wolbachia* in the 13 populations ranged from 6.67% to 46.67%, with the average value of 28.35%. The phylogenetic relationship based on *wsp* gene indicated that *Wolbachia* strains in both Anyang and Xinyang populations of *A. gossypii* were identified as supergroup B, while those in other populations were supergroup A. 【Conclusion】The infection rate of *Wolbachia* in different *A. gossypii* populations of Henan province varies distinctly, and either supergroup A or B *Wolbachia* is present in these *A. gossypii* populations.

Key words: *Aphis gossypii*; *Wolbachia*; *wsp* gene; phylogenetic analysis; infection rate; strain

棉蚜 *Aphis gossypii* Glover 属半翅目(Hemiptera)蚜科(Aphididae)蚜属 *Aphis*,是一种广泛分布于热带、亚热带和温带地区的世界性害虫(Kersting *et al*., 1999)。文献记载棉蚜在全世界范围内有寄主植物 74 科 285 种,其中在我国可危害以棉花和瓜类为主的 100 多种寄主植物(Aldyhim and Khalil, 1993; Satar *et al*., 1999, 2005; 曲爱军等, 2004)。该类害虫以成蚜和若蚜聚集在植物叶片及幼嫩组织,刺吸植物汁液,影响植物生长发育,甚至造成植物死亡。由于个体小,繁殖快,极易扩散并传播多种植物病毒病等特点,给我国农业生产造成严重损失(肖云丽等, 2013)。

沃尔巴克氏体 *Wolbachia* 属于变形菌门(Proteobacteria) α 变形菌纲(Alphaproteobacteria)立克次氏体目(Rickettsiales)形小体科(Anaplasmataceae),是存在于节肢动物体内的一类呈母系遗传的细胞内共生细菌。在自然界中,*Wolbachia* 的分布非常广泛,有多于 16% 的新热带区昆虫种类携带 *Wolbachia*,并且估计有不少于 25% ~ 70% 的昆虫种类为 *Wolbachia* 的潜在寄主(Werren *et al*., 1995; Kozek and Rao, 2007)。*Wolbachia* 与寄主互利共生,其作用主要表现在对寄主生殖行为多种方式的调控,包括细胞质不亲和(Yen and Barr, 1971)、诱导孤雌生殖(Stouthamer *et al*., 1993)、雌性化(Rigaud *et al*., 1991)和杀雄(Hurst *et al*., 1993)等,此外还可增强寄主对外界不利因素尤其是病毒侵染的抵抗能力(Glaser and Meola, 2011)。

一直以来,*Hamiltonella*, *Regiella* 和 *Serratia* 是被报道在蚜虫体内感染率较高的 3 种次生内共生菌(邴孝利等, 2014; Sepúlveda *et al*., 2017),而可调控蚜虫生殖行为的 *Wolbachia* 则被认为在蚜虫体内感染率较低(West *et al*., 1998; Tsuchida *et al*., 2002; Gómez-Valero *et al*., 2004)。近年来,随着分子检测技术的不断发展,越来越多的蚜虫种类体内检测到了 *Wolbachia* 的感染,其中常用于 *Wolbachia* 的检测基因包括核糖体 16S rRNA 基因,编码细胞分裂蛋白的 *ftsZ* 基因和 *Wolbachia* 外膜蛋白基因 *wsp* 基因(李彤等, 2013),另外还有多位点序列分型技术(multilocus sequence typing, MLST)利用 *Wolbachia* 的 5 个管家基因序列和 *wsp* 基因序列来进行 *Wolbachia* 基因序列型的详细研究(Baldo *et al*., 2006)。我国学者在球蚜科 1 种、根瘤蚜科 1 种以及蚜科下 11 个亚科包括棉蚜在内的多种蚜虫体内检测到 *Wolbachia* 的感染(Wang *et al*., 2014);国外学者对采自希腊、西班牙、葡萄牙、以色列和伊朗的共计 425 个蚜虫种群的检测结果表明,其中属于大蚜亚科、蚜亚科、毛蚜亚科和镰管蚜亚科的 37 个蚜虫种群内检测到 *Wolbachia* 的感染(Augustinos *et al*., 2011)。截至目前,国内外对棉蚜体内 *Wolbachia* 感染的报道相对较少(国伟和沈佐锐, 2004; Jones *et al*., 2011),为进一步了解 *Wolbachia* 在棉蚜中的分布,本研究对采集自河南省多个地区的棉蚜种群样本进行 *Wolbachia* 的感染检测,并对不同地区棉蚜种群内感染的 *Wolbachia* 进行系统发育分析,以期为进一步揭示棉蚜及其内共生菌 *Wolbachia* 的系统进化提供研究基础。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

本研究中供试棉蚜种群于 2016 - 2017 年间采自河南省境内 9 个地区,共计 13 个棉蚜种群,棉蚜的采集地、采集日期、寄主植物等信息详见表 1。

1.2 基因组 DNA 提取

棉蚜的基因组 DNA 提取参照吴玉新等(2008)的方法,并根据宋月等(2014)的研究进行了优化。将单头棉蚜成虫置于灭菌的 1.5 mL 离心管中,加入 3 μL STE 裂解液(10 mmol/L Tris-HCl, 1 mmol/L EDTA, 0.1 mol/L NaCl, pH 8.0),在 -20℃条件下冷冻 2 ~ 3 min,充分研磨蚜虫至匀浆;补足裂解液至 20 μL,并加入 1.5 μL 20 mg/mL 的蛋白酶 K;56℃恒温水浴裂解 1.5 ~ 2 h,然后 95℃水浴 10 min 以灭活蛋白酶 K;低速离心后 -20℃冰箱保存备用。

表 1　河南不同地区棉蚜种群采集信息

Table 1　Sampling information of *Aphis gossypii* populations in different areas of Henan province

种群代码 Population code	采集地点 Sampling locality	经纬度 Longitude and latitude	采集日期 Sampling date	寄主植物 Host plants	样本量 Sample size
AY1	安阳 Anyang	114°34′27″E, 36°06′31″N	2017.08.16	棉花 Cotton	15
AY2	安阳 Anyang	114°31′18″E, 36°05′27″N	2017.08.16	棉花 Cotton	15
JZ	焦作 Jiaozuo	112°41′24″E, 34°54′30″N	2016.07.09	棉花 Cotton	15
KF	开封 Kaifeng	114°15′59″E, 34°44′16″N	2016.05.02	西瓜 Watermelon	15
LH	漯河 Luohe	113°59′40″E, 33°37′27″N	2017.08.26	棉花 Cotton	15
NY1	南阳 Nanyang	114°34′07″E, 31°47′47″N	2016.06.13	棉花 Cotton	15
NY2	南阳 Nanyang	112°25′14″E, 32°54′30″N	2017.05.08	棉花 Cotton	15
XX	新乡 Xinxiang	113°42′08″E, 35°00′53″N	2017.05.10	棉花 Cotton	15
XY1	信阳 Xinyang	114°53′01″E, 31°34′03″N	2017.06.03	大牵牛 Morning glory	7
XY2	信阳 Xinyang	114°47′59″E, 31°31′31″N	2017.06.03	棉花 Cotton	15
XY3	信阳 Xinyang	114°48′27″E, 31°30′55″N	2017.06.03	棉花 Cotton	15
ZK	周口 Zhoukou	114°51′26″E, 33°30′03″N	2017.06.02	豇豆 Cowpea	15
ZZ	郑州 Zhengzhou	113°28′22″E, 34°46′04″N	2017.05.10	棉花 Cotton	15

1.3　棉蚜的分子鉴定及其体内 *Wolbachia* 的检测

为确保本研究中所分析的个体均为所需的棉蚜，本研究中选用 *COI* 基因通用引物 LCO1490（5′-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3′）和 HCO2198（5′-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3′）（Folmer *et al*., 1994）对采集的棉蚜种群进行分子鉴定。PCR 反应体系(25 μL)：2×Taq PCR Master Mix 12 μL，上下游引物（10 μmol/L）各 1 μL，DNA 模板 1 μL，双蒸水 10 μL。PCR 反应程序：94℃预变性 2 min；94℃变性 30 s，46℃退火 40 s，72℃延伸 40 s，运行 30 个循环；72℃延伸 10 min；4℃保存。对棉蚜体内 *Wolbachia* 的检测选用 *wsp* 基因进行扩增，引物名称及序列为 81F（5′-TGGTCCAATAAGTGATGAAGAAAC-3′）和 691R（5′-AAAAATTAAACGCTACTCCA-3′）（Zhou *et al*., 1998）。PCR 反应体系同上，PCR 程序：94℃预变性 2 min；94℃变性 35 s，50℃退火 35 s，72℃延伸 40 s，运行 32 个循环；72℃延伸 10 min；4℃保存。本研究中 PCR 扩增产物经 1%琼脂糖凝胶电泳检测后，委托生工生物工程（上海）股份有限公司进行测序。

1.4　棉蚜体内 *Wolbachia* 的感染率及不同地区棉蚜种群 *Wolbachia* 的系统发育分析

对棉蚜进行 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因测定，根据检测结果计算不同地区棉蚜种群的 *Wolbachia* 的感染率；所测得 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因序列结果在 NCBI 网站（https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi）中进行 BLAST 比对，从 GenBank 数据库中检索并下载不同物种 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因序列，基于不同地区棉蚜种群体内感染的 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因序列，用 MEGA6.0（Tamura 等，2013）软件，采用 Kimura-2 Parameter 距离模型，邻接法（neighbor-joining，NJ）构建系统发育树，系统树各分支置信度（bootstrap）均进行 1 000 次的重复检验，分析 *Wolbachia* 的系统进化。

2　结果

2.1　棉蚜的分子鉴定

利用 *COI* 基因通用引物对 13 个棉蚜种群进行序列扩增，经 GenBank 数据库 Blast 比对及根据序列相似度分析，结果表明用于本研究分析的个体均为棉蚜，均可用于后续的共生菌 *Wolbachia* 的检测。

2.2　不同地区棉蚜种群 *Wolbachia* 的感染率

通过对棉蚜种群内 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因进行检测，得出不同棉蚜种群的 *Wolbachia* 感染率（图 1）。检测结果表明，棉蚜种群内的 *Wolbachia* 感染率均低于 50%，且不同地区棉蚜种群间 *Wolbachia* 感染率差异较大，结合图 1 中棉蚜种群的采集地及寄主信息，并未发现不同地区间和不同寄主植物间棉蚜种群 *Wolbachia* 感染率的明显趋势，其中郑州种群 *Wolbachia* 感染率最高，达到 46.67%，信阳 2 种群 *Wolbachia* 感染率最低，仅为 6.67%。

2.3　不同地区棉蚜种群 *Wolbachia* 的系统发育分析

将本研究所有测序得到的 *wsp* 基因序列进行 BLAST 比对，从 GenBank 数据库中检索并下载 24 条已提交的不同物种的 *Wolbachia wsp* 基因序列（相

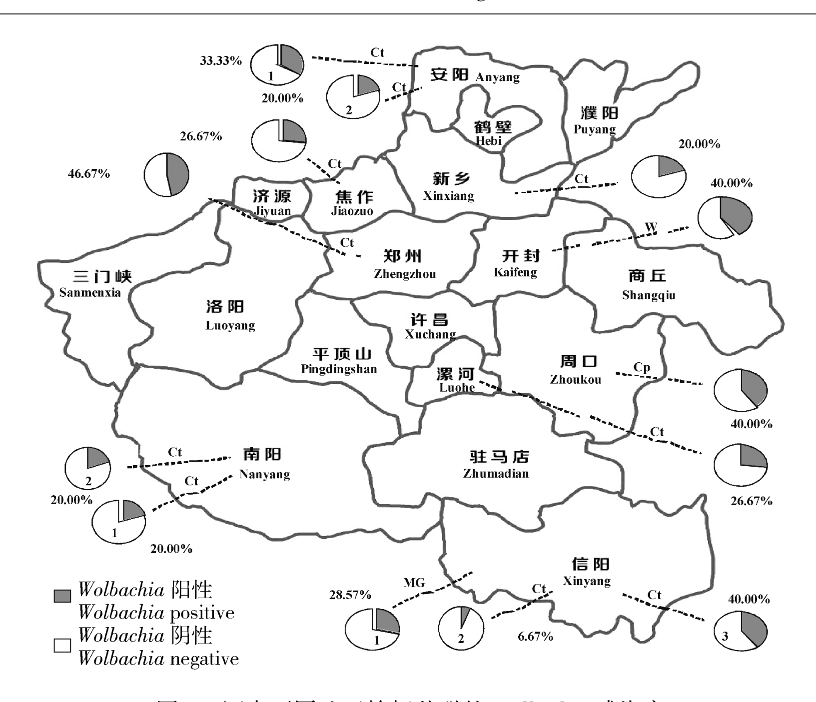


图 1 河南不同地区棉蚜种群的 *Wolbachia* 感染率

Fig. 1 Infection rate of *Wolbachia* in different *Aphis gossypii* populations of Henan province

地理底图下载自河南省测绘地理信息局，背景及色彩稍作修改。图中虚线上字母代表寄主植物种类：Ct 表示棉花，Cp 表示豇豆，W 表示西瓜，MG 表示大牵牛。The basal map was downloaded from Henan Administration of Surveying, Mapping and Geoinformation, with slight modification of background and color. The letters on the dotted line indicates the species of host plants: Ct represents cotton, Cp represents cowpea, W represents watermelon, and MG represents morning glory.

关基因的 GenBank 登录号详见图 2)，构建基于 *wsp* 基因的 *Wolbachia* 系统发育树(图 2)。图中可以看出，采集自郑州、漯河、南阳、开封、新乡、周口和焦作的棉蚜种群体内感染的 *Wolbachia* 均属于 A 大组，而采集自安阳和信阳的棉蚜种群体内感染的 *Wolbachia* 则均属于 B 大组。

3 讨论

本研究中，选用 *wsp* 基因对采自河南省不同地区的 13 个棉蚜种群体内 *Wolbachia* 感染情况进行了检测，结果表明，郑州种群的 *Wolbachia* 感染率最高，为 46.67%，信阳 2 种群的 *Wolbachia* 感染率最低，为 6.67%，*Wolbachia* 在不同地区的棉蚜种群内感染率并未表现出特定规律。值得注意的是，同为信阳种群，信阳 1 种群和信阳 3 种群的 *Wolbachia* 感染率分别为 28.57% 和 40.00%，而信阳 2 种群 *Wolbachia* 感染率仅为 6.67%。根据采集地理信息，3 个种群间并未有明显的地理阻隔或寄主植物的差异，3 个种群的生境基本一致，造成这种现象的原因有待于进一步采样调查来分析研究。*Wolbachia* 作为一种与寄主互利共生的次生内共生菌，在多种昆虫内均有感染(Werren *et al*., 1995)。一直以来，国内外研究对于昆虫体内 *Wolbachia* 报道均表明感染 *Wolbachia* 的蚜虫种类相对较少(Jeyaprakash and Hoy, 2000; Gómez-Valero *et al*., 2004; 国伟和沈佐锐, 2004; Wang *et al*., 2009; 李彤等, 2013)。本课题组 2016 – 2017 年共采集河南省内不同地区的 42 个蚜虫种群，经检测，共有豆蚜 *A. craccivora* 种群 21 个，棉蚜种群 13 个，大豆蚜 *A. glycines* 种群 3 个，玉米蚜 *Rhopalosiphum maidis* 种群 2 个，艾蚜 *A. kurosawai*、绣线菊蚜 *A. citricola* 和栾多态毛蚜 *Periphyllus koelreuteria* 种群各 1 个，其中仅有棉蚜种群(13 个棉蚜种群均检测为 *Wolbachia* 阳性)和大豆蚜种群(2 个大豆蚜种群检测为 *Wolbachia* 阳性)检测到 *Wolbachia* 的感染(另文发表)，这与前人关于感染 *Wolbachia* 的蚜虫种类较少的研究结果是一致的。

垂直传播被认为是 *Wolbachia* 世代间的基本传递模式，已有的大量研究也揭示了其存在广泛的水平传播模式。Huigens 等(2000)的研究指出，当蚬蝶赤眼蜂 *Trichogramma kaykai* 的 *Wolbachia* 阳性个体和 *Wolbachia* 阴性个体共享同一食物源时，*Wolbachia* 可由阳性个体传染给阴性的同种个体，而

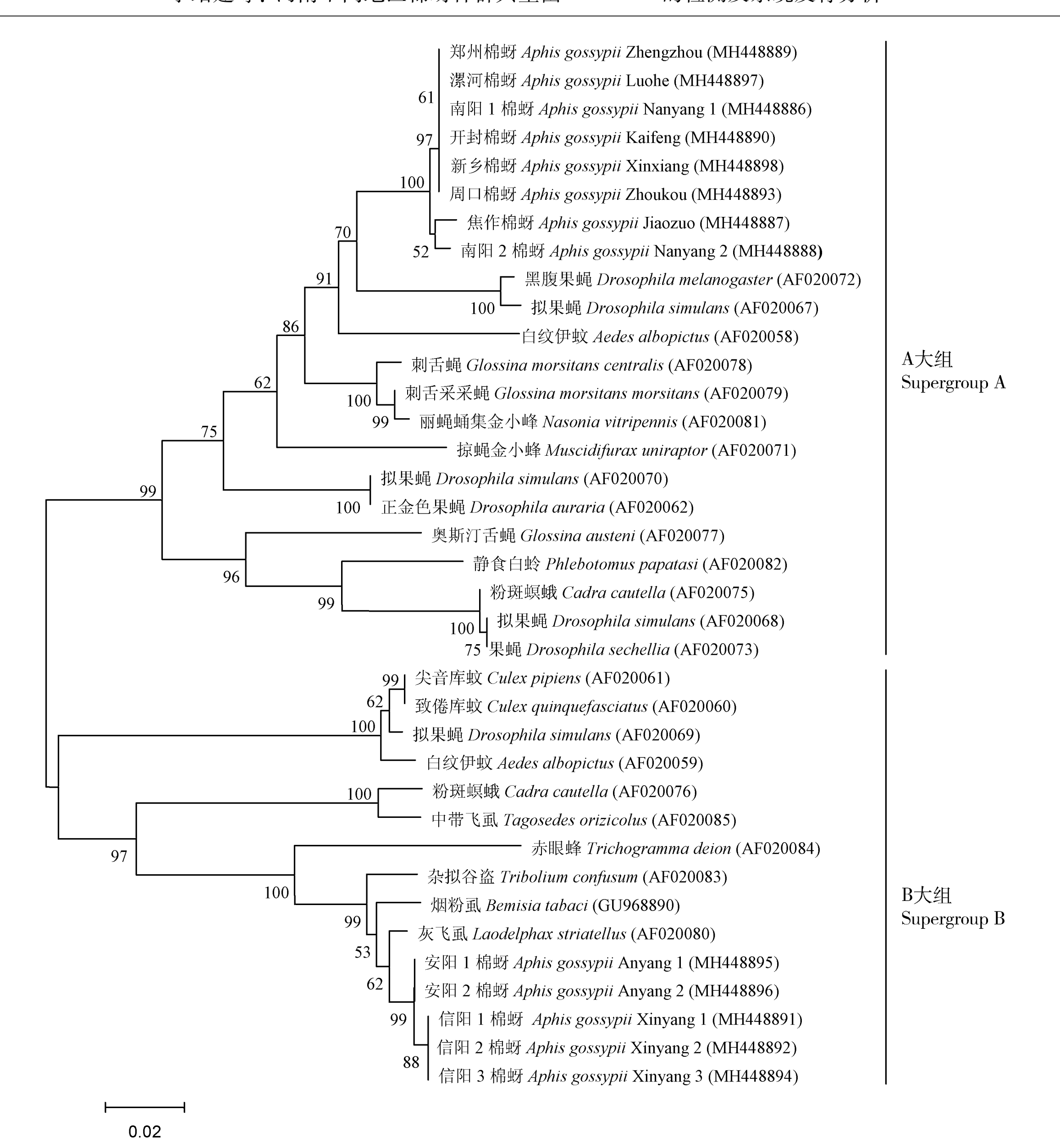


图 2 基于 *wsp* 基因序列的不同昆虫体内 *Wolbachia* 系统发育树（邻接法，1 000 次重复）

Fig. 2 Phylogenetic tree based on *wsp* gene sequence of the *Wolbachia* in different insect species (neighbor-joining method, 1 000 replicates)

且通过这种途径获得的 *Wolbachia* 可以在新寄主体内垂直传递给子代个体。Sintupachee 等（2006）的研究发现，在同一个田间试验点的南瓜叶片上采集的烟粉虱 *Bemisia tabaci*、缟飞虱 *Nisia nervosa*、条跳甲 *Phyllotreta* sp. 和甘薯跳盲蝽 *Halticus minutus* 4 个昆虫种群个体内均存在 *Wolbachia* 的感染，且 4 个昆虫种群个体内感染的 *Wolbachia* 株系一致，因此推测南瓜可能是 *Wolbachia* 在不同寄主个体间水平传播的媒介。本研究中通过对河南省不同地区所采集棉蚜体内感染的 *Wolbachia* 的系统发育分析可以看出，安阳的两个棉蚜种群以及信阳的 3 个棉蚜种群体内感染的 *Wolbachia* 均属于 B 大组，而河南省其余地域所采集棉蚜种群体内感染的 *Wolbachia* 则均属于 A 大组，这说明河南省内棉蚜种群感染的 *Wolbachia* 株系在大组（supergroup）水平上具有一定的多样性，但不同地区棉蚜种群 *Wolbachia* 在组（group）水平上多样性如何？另一方面从地域上来看，不同地区的棉蚜种群间是否存在不同株系 *Wolbachia* 相互交流的可能？这都需要通过补充对河南省和省外相近地区的样本采集和调查及对 *Wolbachia* 的 MLST 分析来进一步研究。另外，有鉴于 *Wolbachia* 与宿主昆虫互利共生，具有调控宿主生殖行为的功能等，因此感

染不同株系 *Wolbachia* 的棉蚜种群间是否存在生物学功能上的差异也有待于进一步研究。

参考文献(References)

Aldyhim YN, Khalil AF, 1993. Influence of temperature and day length on population development of *Aphis gossypii* on *Cucurbita pepo*. *Entomol. Exp. Appl.*, 67(2): 167–172.

Augustinos AA, Santos-Garcia D, Dionyssopoulou E, Moreira M, Papapanagiotou A, Scarvelakis M, Doudoumis V, Ramos S, Aguiar AF, Borges PAV, Khadem M, Latorre A, Tsiamis G, Bourtzis K, 2011. Detection and characterization of *Wolbachia* infections in natural populations of aphids: is the hidden diversity fully unraveled? *PLoS ONE*, 6(12): e28695.

Baldo L, Dunning Hotopp JC, Jolley KA, Bordenstein SR, Biber SA, Choudhury RR, Hayashi C, Maiden MC, Tettelin H, Werren JH, 2006. Multilocus sequence typing system for the endosymbiont *Wolbachia pipientis*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 72(11): 7098–7110.

Bing XL, Rao Q, Luan JB, Liu SS, 2014. The distribution, transmission, functions and genomics of the symbiont *Hamiltonella* of invertebrates. *J. Environ. Entomol.*, 36(2): 252–259. [邴孝利, 饶琼, 栾军波, 刘树生, 2014. 节肢动物共生细菌 *Hamiltonella* 的分布、传播、功能及基因组研究. 环境昆虫学报, 36(2): 252–259]

Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R, 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotech.*, 3(5): 294–299.

Glaser RL, Meola MA, 2011. The native *Wolbachia* endosymbionts of *Drosophila melanogaster* and *Culex quinquefasciatus* increase host resistance to West Nile Virus infection. *PLoS ONE*, 5(8): e11977.

Gómez-Valero L, Soriano-Navarro M, Perez-Brocal V, Heddi A, Moya A, Garcia-Verdugo JM, Latorre A, 2004. Coexistence of *Wolbachia* with *Buchnera aphidicola* and a secondary symbiont in the aphid *Cinara cedri*. *J. Bacteriol.*, 186(19): 6626–6633.

Guo W, Shen ZR, 2004. Molecular identification of *wsp* gene of *Wolbachia* infected in *Aphis gossypii* Glover. *J. Microbiol.*, 24(2): 1–3. [国伟, 沈佐锐, 2004. 棉蚜体内感染沃尔巴克氏体(*Wolbachia*)的分子检测. 微生物学杂志, 24(2): 1–3]

Huigens ME, Luck RF, Klaassen RHG, Maas MFPM, Timmermans MJTN, Stouthamer R, 2000. Infectious parthenogenesis. *Nature*, 405(6783): 178–179.

Hurst GDD, Majerus MEN, Walker LE, 1993. The importance of cytoplasmic male killing elements in natural populations of the two spot ladybird, *Adalia bipunctata* (Linnaeus) (Coleoptera: Coccinellidae). *Biol. J. Linn. Soc.*, 49(2): 195–202.

Jeyaprakash A, Hoy MA, 2000. Long PCR improves *Wolbachia* DNA amplification: *wsp* sequences found in 76% of sixty-three arthropod species. *Insect Mol. Biol.*, 9(4): 393–405.

Jones RT, Bressan A, Greenwell AM, Fierer N, 2011. Bacterial communities of two parthenogenetic aphid species cocolonizing two host plants across the Hawaiian Islands. *Appl. Environ. Microb.*, 77(23): 8345–8349.

Kersting U, Sater S, Uygun N, 1999. Effect of temperature on development rate and fecundity of apterous *Aphis gossypii* Glover (Hom., Aphididae) reared on *Gosspium hirsutum* L. *J. Appl. Entomol.*, 123(1): 23–27.

Kozek WJ, Rao RU, 2007. The discovery of *Wolbachia* in arthropods and nematodes – a historial perspective. In: Hoefauf A, Rao RU eds. *Wolbachia*: A Bug's Life in Another Bug. Issues in Infectious Diseases, Vol. 5. Basel, Karger. 1–14.

Li T, Wu YQ, Xiao JH, Duan Y, Jiang YL, Miao J, Gong ZJ, 2013. Detection and phylogenetic analysis of *Wolbachia* in wheat and soybean aphids in China. *Acta Entomol. Sin.*, 56(2): 195–200. [李彤, 武予清, 肖金花, 段云, 蒋月丽, 苗进, 巩中军, 2013. 小麦和大豆蚜虫中内共生菌 *Wolbachia* 的感染检测和系统发育分析. 昆虫学报, 56(2): 195–200]

Qu AJ, Wei ZS, Zhu CM, Wang ZW, Sun XG, Zhang WG, Chen ZL, 2004. Study on selectivity of *Aphis gossypii* to host plant odour sources. *J. Shandong Agric. Univ.* (*Nat. Sci.*), 35(3): 363–367. [曲爱军, 魏志顺, 朱承美, 王志武, 孙绪艮, 张卫光, 陈子雷, 2004. 棉蚜对寄主植物的选择性研究. 山东农业大学学报(自然科学版), 35(3): 363–367]

Rigaud T, Souty-Grosset C, Raimond R, Mocquard J, Juchault P, 1991. Feminizing endocytobiosis in the terrestrial crustacean *Armadillidium vulgare* Latr. (Isopoda): recent acquisitions. *Endocyt. Cell Res.*, 7(3): 259–273.

Satar S, Kersting U, Uygun N, 1999. Development and fecundity of *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) on three Malvaceae hosts. *Turk. J. Agric. For.*, 23(6): 637–643.

Satar S, Kersting U, Uygun N, 2005. Effect of temperature on development and fecundity of *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) on cucumber. *J. Pest Sci.*, 78(3): 133–137.

Sepúlveda DA, Zepeda-Paulo F, Ramírez CC, Lavandero B, Figueroa CC, 2017. Diversity, frequency, and geographic distribution of facultative bacterial endosymbionts in introduced aphid pests. *Insect Sci.*, 24(3): 511–521.

Sintupachee S, Milne JR, Poonchaisri S, Baimai V, Kittayapong P, 2006. Closely related *Wolbachia* strains within the pumpkin arthropod community and the potential for horizontal transmission via the plant. *Microb. Ecol.*, 51(3): 294–301.

Song Y, Fan YL, Wu LJ, Zhang ZF, Liu YH, Liu TX, 2014. Comparison and optimization of genomic DNA extraction from endosymbionts of aphids. *Acta Phytophy. Sin.*, 41(6): 643–648. [宋月, 樊永亮, 武丽娟, 张战凤, 刘艳红, 刘同先, 2014. 蚜虫内共生菌基因组 DNA 提取方法的比较和优化. 植物保护学报, 41(6): 643–648]

Stouthamer R, Breeuwert JA, Luck RF, Werren JH, 1993. Molecular identification of microorganisms associated with parthenogenesis. *Nature*, 361(6407): 66–68.

Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S, 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Mol. Biol. Evol.*, 30(12): 2725–2729.

Tsuchida T, Koga R, Shibao H, Matsumoto T, Fukatsu T, 2002. Diversity and geographic distribution of secondary endosymbiotic bacteria in natural populations of the pea aphid, *Acyrthosiphon pisum*. *Mol. Ecol.*, 11(10): 2123 -2135.

Wang Z, Shen ZR, Song Y, Liu HY, Li ZX, 2009. Distribution and diversity of *Wolbachia* in different populations of the wheat aphid *Sitobion miscanthi* (Hemiptera: Aphididae) in China. *Eur. J. Entomol.*, 106(1): 49 -55.

Wang Z, Su XM, Wen J, Jiang LY, Qiao GX, 2014. Widespread infection and diverse infection patterns of *Wolbachia* in Chinese aphids. *Insect Sci.*, 21(3): 313 -325.

Werren JH, Windsor D, Guo L, 1995. Distribution of *Wolbachia* among neotropical arthropods. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.*, 262(1364): 197 -204.

West SA, Cook JM, Werren JH, Godfray HC, 1998. *Wolbachia* in two insect host-parasitoid communities. *Mol. Ecol.*, 7(11): 1457 -1465.

Wu YX, Zhang CL, Hong XY, 2008. Analysis of the phylogenetic relationships between *Myzus persicae* and its endosymbiotic bacterium *Buchnera*. *J. Nanjing Agric. Univ.*, 31(1): 51 -56. [吴玉新, 张春玲, 洪晓月, 2008. 桃蚜与其内共生菌 *Buchnera* 之间的系统进化关系分析. 南京农业大学学报, 31(1): 51 -56]

Xiao YL, Yin XC, Liu TX, 2013. Performance of the two host-biotypes of *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) on different cucurbitaceous host plants. *Acta Ecol. Sin.*, 33(12): 3706 -3711. [肖云丽, 印象初, 刘同先, 2013. 不同生物型棉蚜对夏寄主葫芦科作物的选择. 生态学报, 33(12): 3706 -3711]

Yen JH, Barr AR, 1971. New hypothesis of the cause of cytoplasmic incompatibility in *Culex pipiens* L. *Nature*, 232(5313): 657 -658.

Zhou W, Rousset F, O′Neill S, 1998. Phylogeny and PCR-based classification of *Wolbachia* strains using *wsp* gene sequences. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.*, 265(1395): 509 -515.

（责任编辑：马丽萍）